

ニトロフラゾン試験法

1. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したものをを用いる。

水 液体クロマトグラフ用に製造したものをを用いる。

3. 標準品

ニトロフラゾン 本品はニトロフラゾン99%以上を含む。

融点 本品の融点は238~240℃である。

4. 試験溶液の調製

a はちみつの場合

検体を均一化した後、その5.00 gを量り採る。

これに0.1mol/L塩酸10mLを加え、溶解する。次いでアセトニトリル20mL及び塩化ナトリウム5 gを加え、振とう機を用いて10分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。残留物及び水層にアセトニトリル20mLを加え、上記と同様に操作して、アセトニトリル層を上記のすり合わせ減圧濃縮器中に合わせる。これに*n*-プロパノール10mLを加えて、40℃以下でアセトニトリル及び*n*-プロパノールを除去する。この残留物に0.1vol%ギ酸含有メタノール1.0mLを加えて溶かし、これを試験溶液とする。

b aに掲げる食品以外の食品の場合

検体を細切均一化した後、その5.00 gを量り採る。なお筋肉の場合は、可能な限り脂肪層を除いた上で細切均一化を行う。

これにアセトニトリル30mL、アセトニトリル飽和*n*-ヘキサン20mL及び無水硫酸ナトリウム10 gを加えて細砕した後、毎分3,000回転で5分間遠心分離し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。アセトニトリル飽和*n*-ヘキサン層及び残留物にアセトニトリル20mLを加え、振とう機を用いて10分間激しく振り混ぜた後、毎分3,000回転で5分間遠心分離し、アセトニトリル層を上記のすり合わせ減圧濃縮器中に合わせる。これに*n*-プロパノール10mLを加えて、40℃以下でアセトニトリル及び*n*-プロパノールを除去する。この残留物に0.1vol%ギ酸含有メタノール溶液1.0mLを加えて溶かし、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径2～5 μm ）を用いる。

カラム管 内径2.0～6.0mm、長さ100～250mmのステンレス管を用いる。

カラム温度 40℃

移動相 アセトニトリル及び10mmol/L酢酸アンモニウムの混液(1:99)から(1:0)までの濃度勾配を35分間で行う。ニトロフラゾンが約20分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。